



Skrytá tvář laboratorních metod ?

J. Havlasová, Interimun s.r.o.

Vlastnosti charakterizující laboratorní metodu:

1. z hlediska analytického

přesnost/ správnost („nejistota měření“)

analytická citlivost

analytická specifita

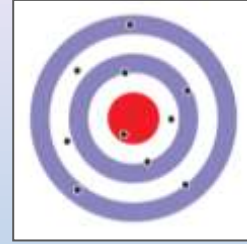
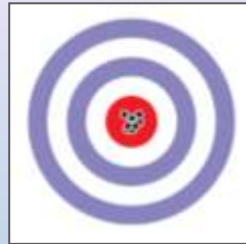
2. z hlediska klinického

(význam pro stanovení diagnózy)

senzitivita/ specifita

pozitivní/ negativní předpovědní hodnota

B. Vlastnosti laboratorních metod z analytického hlediska



1. Přesnost

Opakované vyšetření téhož vzorku - míra shody mezi výsledky (rozptyl výsledků)

Matematické vyjádření rozptylu výsledků:

- ***Směrodatná odchylka SD***
- ***Variační koeficient CV***

- **opakování v sérii (intra – assay variabilita; opakovatelnost)**
- **opakování v čase (inter – assay variabilita; reprodukovatelnost)**
- **mezilaboratorní porovnání (SEKK)**

B. Vlastnosti laboratorních metod z analytického hlediska



2. Správnost

shoda mezi výsledkem a skutečnou hodnotou (bias)

skutečná hodnota ?

***referenční metoda, certifikovaný referenční materiál
průměr z měření po vyloučení odlehlých hodnot***

Přijatelná přesnost a správnost vychází z velikosti biologického rozptylu.

Ověření přesnosti a správnosti: kontroly kvality

- **Interní**
- **Externí (SEKK, UK NEQAS, Instand)**

Analýza kontrolního vzorku → Vyhodnocení analýzy → Reakce

B. Vlastnosti laboratorních metod z analytického hlediska

Tzv. systém SLP (ISO 15 189)

System řízení jakosti v laboratoři

- **Validace metody**
(výrobce kitu, CE značka, certifikát FDA)
- **Verifikace metody**
(laboratoř)

Interní kontroly kvality

- **opakování v sérii a v čase**
- **Přesnost + správnost**

„Nejistota měření“

**Kombinovaná relativní
nejistota, u_r [%]**

Verifikační protokol – měření kontrolních vzorků

Verifikovaná metoda: CELMOVA! Igg CAP Stráž

Kontrolní vzorek:

Název: TIE CONTROL

Výrobce/distributor: SIEMENS, OPC, IMMULITE

Série: IECH0296 / 2011 - 11

Deklarovaná hodnota: Ø 180, SD 18, 230 RANGE 144-216 [IU/ml]

Měření:

A. V rámci jedné směny (reprodukovatelnost uvnitř série):

Datum měření: 26.7.2010

Měření:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Naměřená (zjištěná) hodnota	196	206	174	177	185	188	171	182	170	183

B. Naměřené hodnoty mezi směnami (reprodukovatelnost mezi sériemi)

Měření:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Datum měření	26.7.10	26.8.10	26.8.10	2.9.10	9.9.10	16.9.10	23.9.10	30.9.10	7.10.10	14.10.10
Naměřená (zjištěná) hodnota	196	183	168	174	185	187	195	185	185	188

Datum ukončení měření: _____

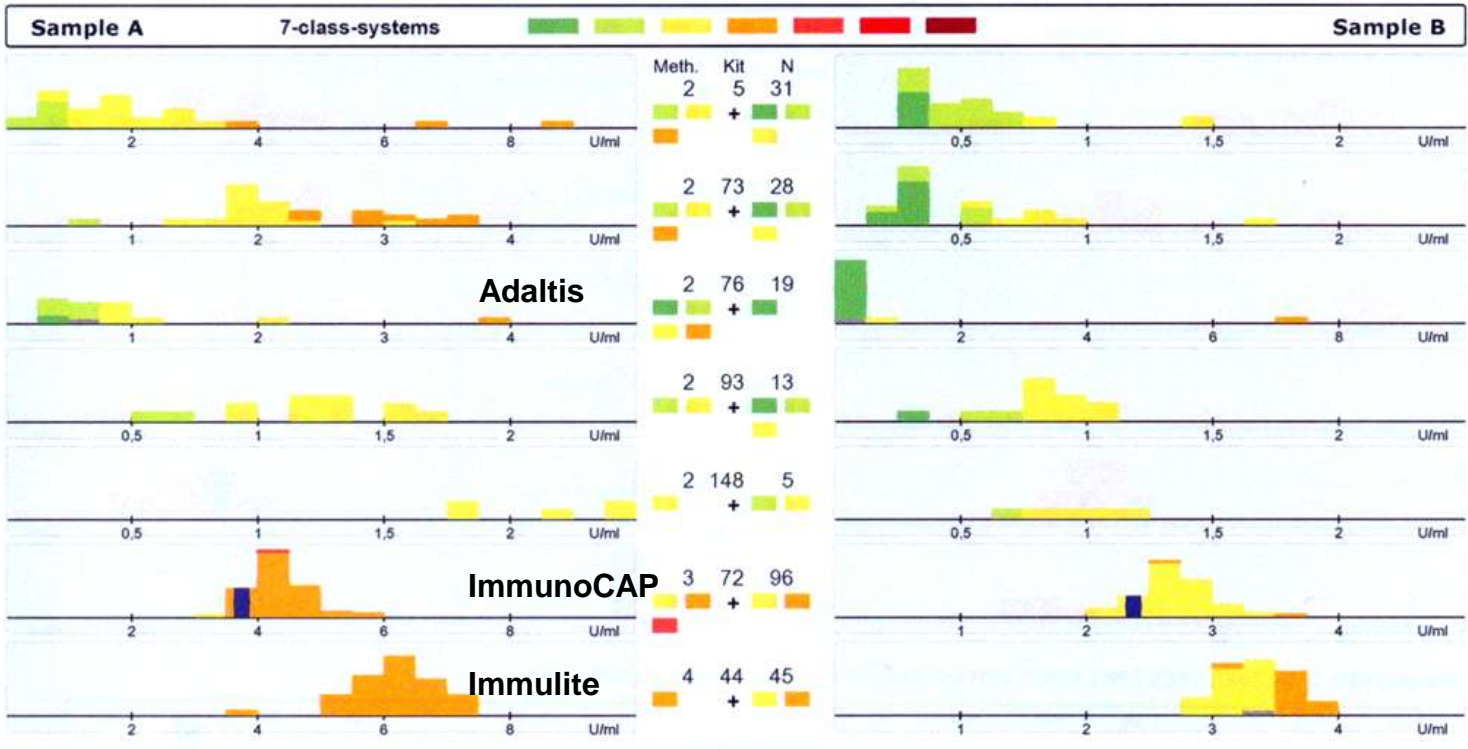
Měření provedl (provedla): KATKA KOUPILCOVA!

u_r 2,6%

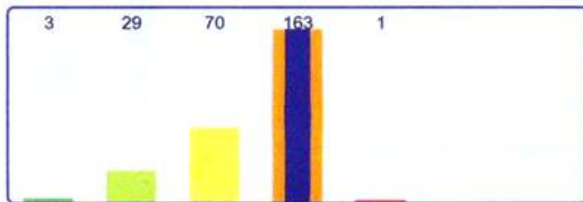
10.9.2010 *Katka*

SEKK specifické IgE: D1

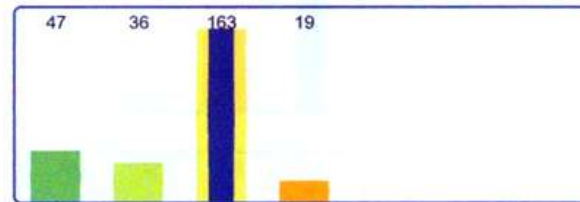
<0,35 <0,7 <3,5 <17,5 <50 <100 >100 U/ml



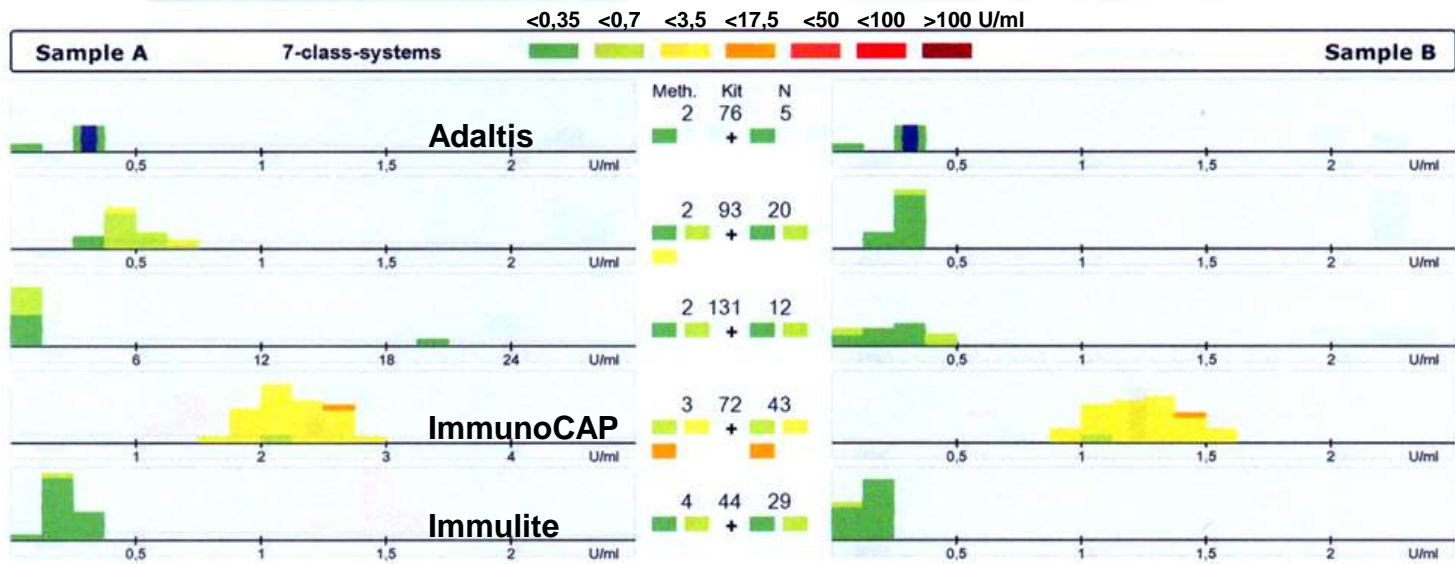
Other kits: 2 44(1), 2 72(3), 2 88(1), 2 92(3), 2 99(1), 2 131(1), 2 144(4), 3 172(1), 4 72(2), 8 5(1), 9 5(2), 10 5(4).



classification

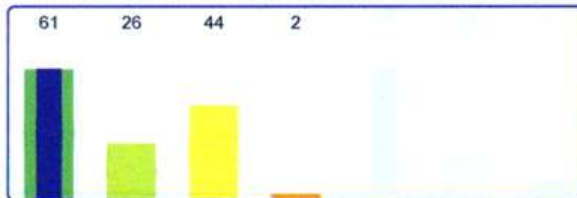


SEKK specifické IgE: F84/Kiwi

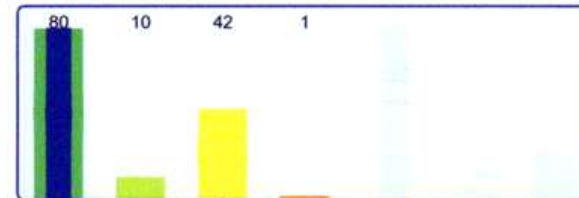


Meth.	Kit	N
2	76	5
+		
2	93	20
+		
2	131	12
+		
3	72	43
+		
4	44	29

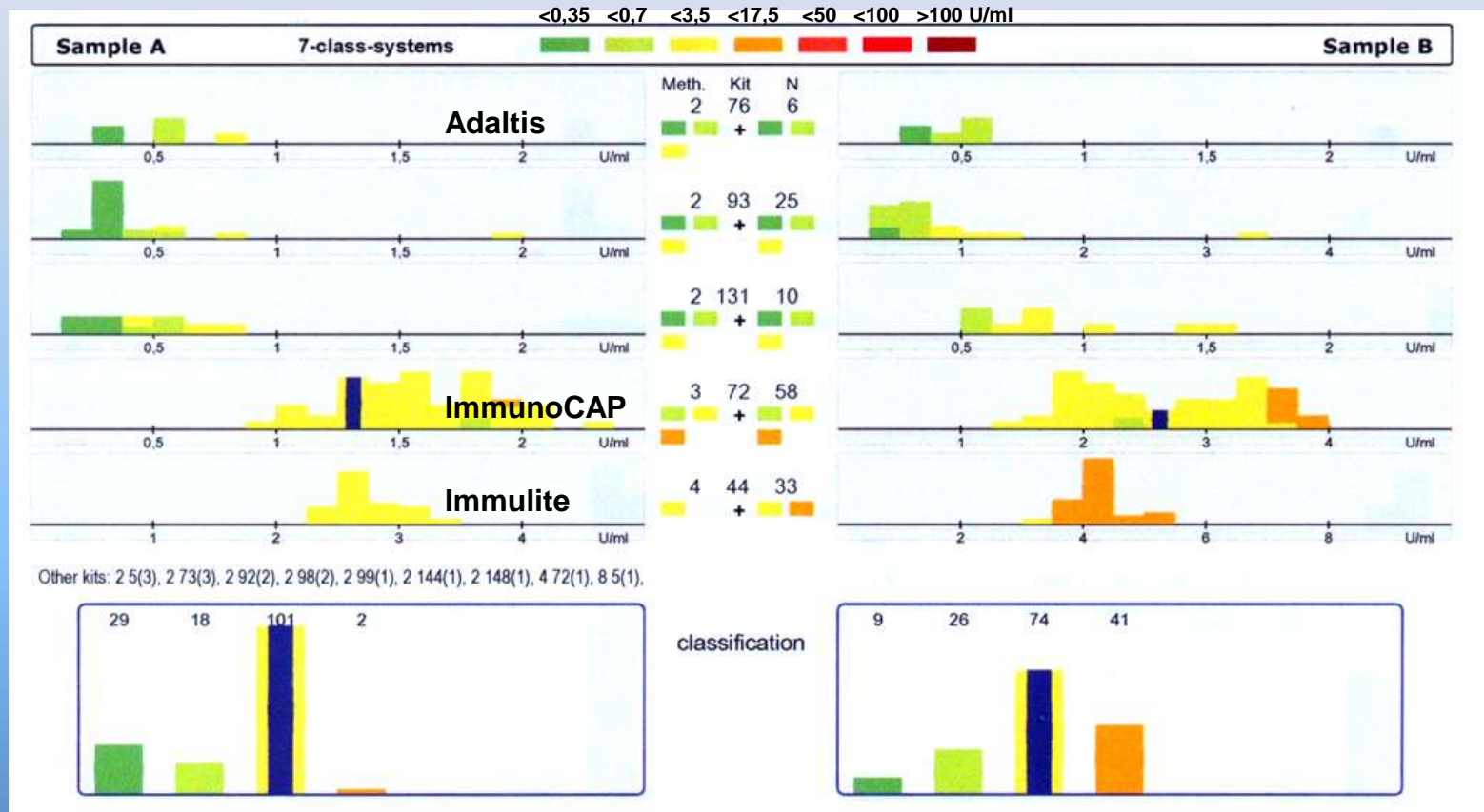
Other kits: 2 5(4), 2 73(3), 2 92(1), 2 98(1), 2 99(1), 2 144(1), 2 148(1), 4 72(1), 8 5(2), 9 5(1), 9 99(1), 98 98(1).



classification



SEKK specifické IgE: I3/Vosa



B. Vlastnosti laboratorních metod z analytického hlediska

3. Analytická citlivost

Volíme metodu s klinicky relevantní citlivostí.

Sp. IgE ImmunoCAP Phadia 0 - 0,35 U/ml (hmyzí jed)

Meze stanovitelnosti (dolní/ horní)

Dolní = nejnižší hodnota, statisticky významně odlišná od vzorku, který neobsahuje analyt

RID IgA podtřídy u pacientů s deficitem IgA (pod 50 mg/l)

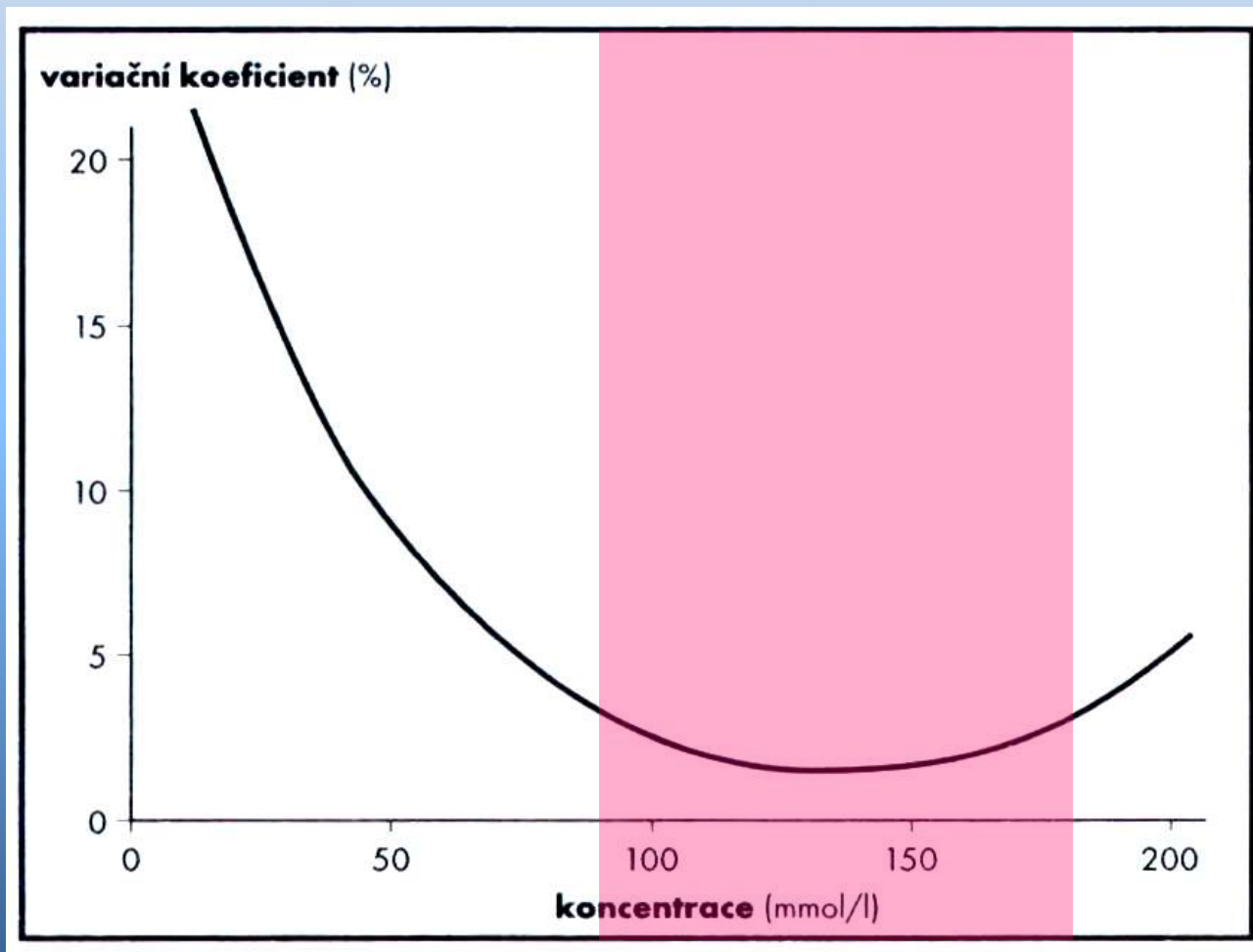
měřící rozsah: IgA nefelometrie Immage > 67 mg/l

IgA1 RID 541 mg/l – 10 000 mg/l

IgA2 RID 55 mg/l – 833 mg/l

B. Vlastnosti laboratorních metod z analytického hlediska

Přesnost metody není stejná v celém měřitelném rozsahu koncentrací.



B. Vlastnosti laboratorních metod z analytického hlediska

4. Analytická specifičnost

Interference a z toho vyplývající nesprávné výsledky

A. Vlastnosti laboratorních metod z klinického hlediska

1. Senzitivita - 100%

= 100% nemocných má pozitivní test

transglutamináza IgA (95-99%)

dsDNA (< 40% u inaktivního SLE; > 95% u aktivního SLE s postižením ledvin)

2. Specifita - 100%

= 100% zdravých má negativní test

nativní gliadin & deamidované gliadinové peptidy

3. Pozitivní předpovědicí hodnota - 100%

= 100% osob s pozitivním testem je nemocných

transglutamináza IgA > 10x vyšší než cut off ~ 100%PPV

4. Negativní předpovědicí hodnota - 100%

= 100% osob s negativním testem je zdravých

A. Vlastnosti laboratorních metod z klinického hlediska

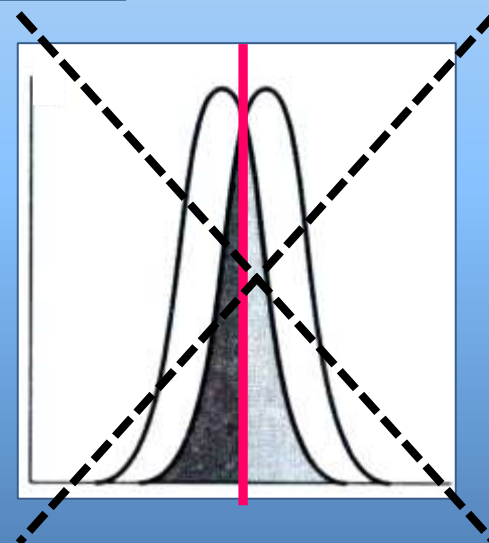
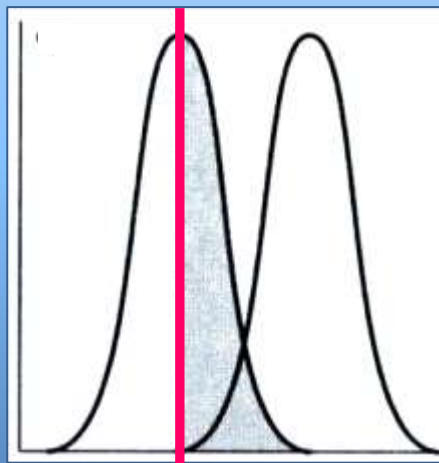
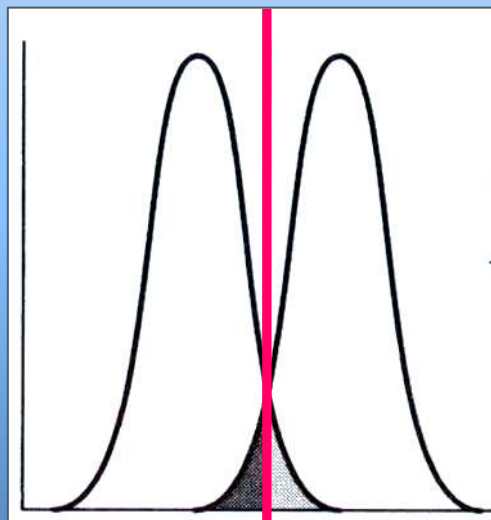
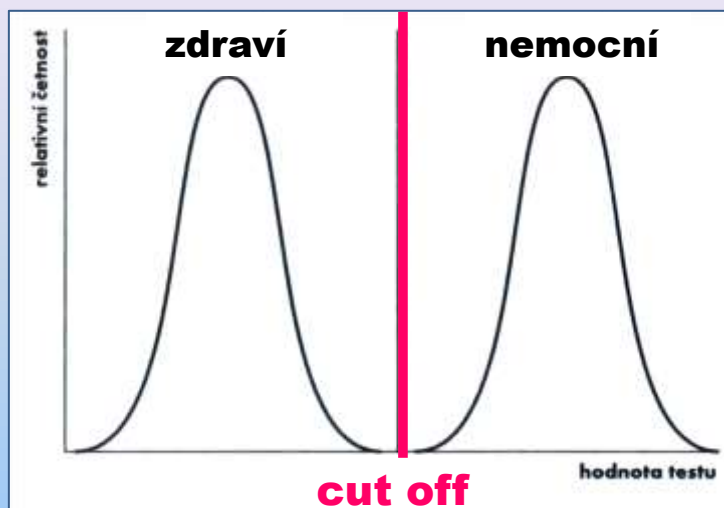
- **Stanovení referenčního (fyziologického) rozmezí *imunoglobuliny***
- **Dolní referenční mez**
aktivita komplementu (norma > 5%, u deficitu <5%)
- **Horní referenční mez (cut off)**
autoprotilátky (TTG IgA norma < 20 U/ml)

Závisí často na použité metodě (kitu) – uvedeno na výsledkovém listu.

A. Vlastnosti laboratorních metod z klinického hlediska

➤ Stanovení hodnoty cut off

Vliv na senzitivitu a specifitu



Výsledek odpovídá u 95% referenční populace

Hodnota (těsně) nad cut off: ? Nemocný nebo zdravý (5%)?

Specifika laboratorní imunologie:

- ✓ **Stále probíhá proces standardizace (celosvětově)**
certifikované referenční materiály (WHO, NIBSC, BCR)
- ✓ **Rozdíly v antigenech/alergenech (~ výrobci)**
- ✓ **Výsledek ovlivní i metoda stanovení (imunoblot, imunofluorescence, ELISA)**
- ✓ **Často nízká klinická senzitivita a specifita**
- ✓ **Vývoj v čase (dynamický obor)**
celiakie

O starost více pro klinika?

Prostor pro osobní konzultace s analytikem.

Zajištění spolehlivosti výstupů z laboratoře:

- ✓ Výběr vhodné metody pro daný parametr
- ✓ Kontrola spolehlivosti analytiky
- ✓ Respektování preanalytických požadavků (znehodnocený vzorek)
- ✓ Bezchybná manipulace se vzorky (záměna vzorků)
- ✓ Správný zápis výsledků

Tzv. systém SLP (ISO 15 189)

Audity

Certifikace, akreditace



Poděkování týmu laboratoře Interimun:

Prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Doc. RNDr. Ctirad Andrýs, PhD.

RNDr. Marcela Drahošová

MUDr. Tomáš Sýkora

Markéta Vontorková

Ladislav Štorek, DiS.

RNDr. Kamila Koupilová, PhD.

Mgr. Kateřina Štemberková

Zdeněk Brychta (svoz vzorků)

Bc. Lucie Řezáčová (příjem žádanek, admin. práce)

Děkuji za pozornost.